ชานนทร์ แสงจันทร์ : การควบคุมโรคเน่าเละที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* ในผักกาดเขียวปลีโดยใช้ความต้านทานจากสิ่งกระตุ้น (CONTROL OF BACTERIAL SOFT ROT DISEASE CAUSED BY *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* IN CHINESE GREEN MUSTARD USING RESISTANCE ELICITORS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์. ดร.ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, 95 หน้า.

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุมโรคเน่าเละในผักกาดเขียวปลี โดยใช้ความต้านทานจากสิ่งกระตุ้น (elicitor) ทดลองโดยนำเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovara* pv. *carotovora* จำนวน 9 ไอโซเลต มาทดสอบความสามารถในการก่อโรค พบว่าไอโซเลต ECC_Cr2 มีความสามารถในการก่อโรครุนแรงที่สุด จากนั้นประเมินประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ไอโซเลต ECC_Cr2 ด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่าเชื้อไอโซเลต CaSUT007 มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเฉลี่ยได้เท่ากับ 7.5±0.032 มิลลิเมตร การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไอโซเลต CaSUT007 และกรดซาลิไซลิก จำนวน 4 ความเข้มข้นในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ด้วยวิธี blotter method พบว่าไอโซเลต CaSUT007 และกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 200 ppm มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการงอกของเมล็ด ความยาวรากและความสูงของต้นกล้าผักกาดเขียวปลีได้ดีที่สุด จากนั้นทำการศึกษาประสิทธิภาพและกลไกในการส่งเสริมการเจริญเติบโตจากสิ่งกระตุ้นในผักกาดเขียวปลีพันธุ์ MAX018ในสภาพเรือนทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) พบว่า การคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไอโซเลต CaSUT007 ร่วมกับการฉีดพ่นกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 200 ppm จำนวน 5 ครั้งทำให้พืชมีความกว้างทรงพุ่ม ความสูงทรงพุ่ม และปริมาตรของหัวสูงที่สุด การใช้เทคนิค Fourier transformed infrared spectroscopy ศึกษาการสะสมของสารในกระบวนการชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับกลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโต พบกลุ่มไขมันชนิด C-H stretching (~3,000-2,800 cm^{-1}) กลุ่มไขมันชนิด C=O ester (~1,740 cm^{-1}) และกลุ่ม amide I (~1,700-1,600 cm^{-1}) มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น แต่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตชนิด C-H bonding, C-O stretching และ polysaccharide (~1,450-1,350 cm^{-1}, ~1,246 cm^{-1} และ ~1,200-900 cm^{-1}) มีปริมาณลดต่ำลงในทุกช่วงเวลาของการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อในการควบคุมโรคเน่าเละ พบว่า การคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไอโซเลต CaSUT007 ร่วมกับการฉีดพ่นด้วยกรดซาลิไซลิกความเข้มข้น 200 ppm สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรค เท่ากับ 47.1 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งเทียบเท่ากับการใช้สารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ การศึกษากลไกความต้านทาน โดยการวิเคราะห์ปริมาณ salicylic acid (SA) และ phenolic compound ภายในเนื้อเยื่อพืช พบว่า การคลุกเมล็ดเชื้อไอโซเลต CaSUT007 ร่วมกับการฉีดพ่นด้วยกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 200 ppm มีปริมาณสาร salicylic acid (SA)

เพิ่มขึ้นที่ 48ชั่วโมง หลังฉีดเท่ากับ 4.27 μg g^{-1} fresh weight และมีการเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งที่ 96 ชั่วโมง สำหรับสาร phenolic compound มีการเพิ่มขึ้นที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 2.35 μg gallic acid equivalent/mg dry mass และมีการเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งที่ 96 ชั่วโมงเช่นกัน นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุภายในเซลล์ผักกาดเขียวปลี โดยใช้เทคนิค X-ray Fluorescence (XRF) พบว่ามีการสะสมของโพแทสเซียม (K) แมงกานีส (Mn) และเหล็ก (Fe) ลดต่ำลง ต่างจากการสะสมของธาตุแคลเซียม (Ca) ที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับพืชปกติ ธาตุเหล่านี้มีความสำคัญในการส่งสัญญาณการทำงานของเอนไซม์ ขณะที่แคลเซียมช่วยให้ผนังเซลล์พืชมีความแข็งแรงเพื่อปกป้องตนเองจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การใช้เชื้อไอโซเลต CaSUT007 คลุกเมล็ดร่วมกับการใช้กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 200 ppm ฉีดพ่นให้ทางใบสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต และกระตุ้นให้ผักกาดเขียวปลีพันธุ์ MAX018 ต้านทานต่อโรคเน่าเละที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *E. carotovora* pv. *carotovora* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2557 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

CHANON SAENGCHAN : CONTROL OF BACTERIAL SOFT ROT DISEASE CAUSED BY *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* IN CHINESE GREEN MUSTARD USING RESISTANCE ELICITORS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NATTHIYA BUENSANTEAI, Ph.D., 100 PP.

CHINESE GREEN MUSTARD/*Bacillus subtilis* /SOFT ROT/*Erwinia carotovora*/ INDUCED RESISTANCE/FTIR SPECTROSCOPY/X-RAY FLUORESCENCE

The objective of this study was to control the soft rot disease in chinese green mustard caused by *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* (*ECC*) by induced resistance using resistance elicitors. After pathogenecity test of 9 pathogen isolates, Ecc_Cr2 was selected as the representative isolate for this study. Subsequently, inhibitory efficacy of *Bacillus* spp. on the Ecc_Cr2 was evaluated using the paper disc method and it was found that the CaSUT007 isolate was the best, having the widest average inhibition zone of 7.5±0.032 mm. Experiment on plant growth promotion was done by seed treating of CaSUT007 and foliar spraying with 200 ppm salicylic acid to the MAX018 chinese green mustard under a greenhouse condition using the randomized complete block design (RCBD). From the result, it was found that seeds treated with CaSUT007 and sprayed with salicylic acid for 5 times gave the highest percentage of canopy width, canopy height and head diameter. Analysis of biochemical changes by fourier transformed infrared spectroscopy at 21, 28 and 35 days after planting found that the treatment could significantly increase the contents of C-H stretching (~3,000-2,800 cm^{-1}) and C=O ester (~1,740 cm^{-1}) lipids and Amide I (~1,700-1,600 cm^{-1}), but decrease the contents of C-H bonding and C-O stretching carbohydrates. The treatment could also decrease polysaccharides (~1,450-1350 cm^{-1}, ~1,246 cm^{-1} and

~1,200-900 cm^{-1}). The experiment on soft rot control showed that seeds treated with CaSUT007 and foliar sprayed with 200 ppm salicylic acid for 5 times gave significantly the lowest disease incidence and severity index of 47.10% and 12.50% , respectively, which were comparable to those of the copper hydroxide treatment. Analysis of salicylic acid in the induced plants found that those that were treated gave the highest increase at 48 hours after pathogen inoculation (HAI) of 4.27 µg g^{-1} fresh weight, then leveled off, and increased again at 96 HAI. For phenolic compound, the elicitors treatment gave the highest accumulation of 2.35 µg gallic acid equivalent/mg dry mass at 24 HAI and increased again at 96 HAI when compared to that of the control treatment. Analysis of elements involved in plant defense mechanism by X-ray Fluorescence indicated the decreased content of K, Mg and Fe but the increased accumulation of Ca in induced plants when compared to those in the healthy plants, suggesting that these two resistance elicitors might suppress K, Mg and Fe accumulation for signaling transduction or increasing the defense enzyme activities. The increase of Ca accumulation could involve cell wall construction in plant defense mechanism. The results of this study indicated that seed treatment with the *Bacillus* CaSUT007 strain and foliar spraying with 200 ppm salicylic acid could be used to reduce soft rot disease severity in MAX018 chinese green mustard.

School of Crop Production Technology Student's Signature _____

Academic Year 2014 Advisor's Signature _____

ชานนทร์ แสงจันทร์ : การควบคุมโรคเน่าเละที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* ในผักกาดเขียวปลีโดยใช้ความต้านทานจากสิ่งกระตุ้น (CONTROL OF BACTERIAL SOFT ROT DISEASE CAUSED BY *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* IN CHINESE GREEN MUSTARD USING RESISTANCE ELICITORS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์. ดร.ณัฐธิญา เบือนสันเทียะ, 100 หน้า.

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุมโรคเน่าเละในผักกาดเขียวปลี โดยใช้ความต้านทานจากสิ่งกระตุ้น (elicitor) ทดลองโดยนำเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovara* pv. *carotovora* จำนวน 9 ไอโซเลต มาทดสอบความสามารถในการก่อโรค พบว่าไอโซเลต ECC_Cr2 มีความสามารถในการก่อโรครุนแรงที่สุด จากนั้นประเมินประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ไอโซเลต ECC_Cr2 ด้วยวิธี paper discdiffusion พบว่าเชื้อไอโซเลต CaSUT007 มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเฉลี่ยได้เท่ากับ 7.5±0.032 มิลลิเมตร การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไอโซเลต CaSUT007 และกรดซาลิไซลิก จำนวน 4 ความเข้มข้นในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ด้วยวิธี blotter method พบว่าไอโซเลต CaSUT007 และกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 200 ppm มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการงอกของเมล็ด ความยาวรากและความสูงของต้นกล้าผักกาดเขียวปลีได้ดีที่สุด จากนั้นทำการศึกษาประสิทธิภาพและกลไกในการส่งเสริมการเจริญเติบโตจากสิ่งกระตุ้นในผักกาดเขียวปลีพันธุ์ MAX018ในสภาพเรือนทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) พบว่า การคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไอโซเลต CaSUT007 ร่วมกับการฉีดพ่นกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 200 ppm จำนวน 5 ครั้งทำให้พืชมีความกว้างทรงพุ่ม ความสูงทรงพุ่ม และปริมาตรของหัวสูงที่สุด การใช้เทคนิค Fourier transformed infrared spectroscopy ศึกษาการสะสมของสารในกระบวนการชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับกลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโต พบกลุ่มไขมันชนิด C-H stretching (~3,000-2,800 cm^{-1}) กลุ่มไขมันชนิด C=O ester (~1,740 cm^{-1}) และกลุ่ม amide I (~1,700-1,600 cm^{-1}) มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น แต่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตชนิด C-H bonding, C-O stretching และ polysaccharide (~1,450-1,350 cm^{-1}, ~1,246 cm^{-1} และ ~1,200-900 cm^{-1}) มีปริมาณลดต่ำลงในทุกช่วงเวลาของการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อในการควบคุมโรคเน่าเละ พบว่า การคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไอโซเลต CaSUT007 ร่วมกับการฉีดพ่นด้วยกรดซาลิไซลิกความเข้มข้น 200 ppm สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรค เท่ากับ 47.1 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งเทียบเท่ากับการใช้สารเคมีคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ การศึกษากลไกความต้านทาน โดยการวิเคราะห์ปริมาณ salicylic acid (SA) และ phenolic compound ภายในเนื้อเยื่อพืช พบว่า การคลุกเมล็ดเชื้อไอโซเลต

CaSUT007 ร่วมกับการฉีดพ่นด้วยกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 200 ppm มีปริมาณสาร salicylic acid (SA) เพิ่มขึ้นที่ 48ชั่วโมง หลังฉีดเท่ากับ 4.27 μg g^{-1} fresh weight และมีการเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งที่ 96 ชั่วโมง สำหรับสาร phenolic compound มีการเพิ่มขึ้นที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 2.35 μg gallic acid equivalent/mg dry mass และมีการเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งที่ 96 ชั่วโมงเช่นกัน นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุภายในเซลล์ผักกาดเขียวปลี โดยใช้เทคนิค X-ray Fluorescence (XRF) พบว่ามีการสะสมของโพแทสเซียม (K) แมงกานีส (Mn) และเหล็ก (Fe) ลดต่ำลง ต่างจากการสะสมของธาตุแคลเซียม (Ca) ที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับพืชปกติ ธาตุเหล่านี้มีความสำคัญในการส่งสัญญาณการทำงานของเอนไซม์ ขณะที่แคลเซียมช่วยให้ผนังเซลล์พืชมีความแข็งแรงเพื่อปกป้องตนเองจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การใช้เชื้อไอโซเลต CaSUT007 คลุกเมล็ดร่วมกับการใช้กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 200 ppm ฉีดพ่นให้ทางใบสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต และกระตุ้นให้ผักกาดเขียวปลีพันธุ์ MAX018 ต้านทานต่อโรคเน่าเละที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *E. carotovora* pv. *carotovora* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2557 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

CHANON SAENGCHAN : CONTROL OF BACTERIAL SOFT ROT DISEASE CAUSED BY *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* IN CHINESE GREEN MUSTARD USING RESISTANCE ELICITORS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NATTHIYA BUENSANTEAI, Ph.D., 95 PP.

CHINESE GREEN MUSTARD/*Bacillus subtilis* /SOFT ROT/*Erwinia carotovora*/ INDUCED RESISTANCE/FTIR SPECTROSCOPY/X-RAY FLUORESCENCE

The objective of this study was to control the soft rot disease in chinese green mustard caused by *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* (*ECC*) by induced resistance using resistance elicitors. After pathogenecity test of 9 pathogen isolates, Ecc_Cr2 was selected as the representative isolate for this study. Subsequently, inhibitory efficacy of *Bacillus* spp. on the Ecc_Cr2 was evaluated using the paper disc method and it was found that the CaSUT007 isolate was the best, having the widest average inhibition zone of 7.5±0.032 mm. Experiment on plant growth promotion was done by seed treating of CaSUT007 and foliar spraying with 200 ppm salicylic acid to the MAX018 chinese green mustard under a greenhouse condition using the randomized complete block design (RCBD). From the result, it was found that seeds treated with CaSUT007 and sprayed with salicylic acid for 5 times gave the highest percentage of canopy width, canopy height and head diameter. Analysis of biochemical changes by fourier transformed infrared spectroscopy at 21, 28 and 35 days after planting found that the treatment could significantly increase the contents of C-H stretching (~3,000-2,800 cm^{-1}) and C=O ester (~1,740 cm^{-1}) lipids and Amide I (~1,700-1,600 cm^{-1}), but decrease the contents of C-H bonding and C-O stretching carbohydrates. The treatment could also decrease polysaccharides (~1,450-1350 cm^{-1}, ~1,246 cm^{-1} and ~1,200-900 cm^{-1}). The experiment on soft rot control showed that seeds treated with CaSUT007 and foliar sprayed with 200 ppm salicylic acid for 5 times gave significantly the lowest disease incidence and severity index of 47.10% and 12.50% , respectively, which were comparable to those of the

copper hydroxide treatment. Analysis of salicylic acid in the induced plants found that treated samples gave the highest increase at 48 hours after pathogen inoculation (HAI) of 4.27 µg g^{-1} fresh weight, then leveled off, and increased again at 96 HAI. For phenolic compounds, the elicitors treatment gave the highest accumulation of 2.35 µg gallic acid equivalent/mg dry mass at 24 HAI and increased again at 96 HAI when compared to that of the control treatment. Analysis of elements involved in plant defense mechanism by X-ray Fluorescence indicated the decreased content of K, Mg and Fe but the increased accumulation of Ca in induced plants when compared to those in the healthy plants, suggesting that these two resistance elicitors might suppress K, Mg and Fe accumulation for signaling transduction or increasing the defense enzyme activities. The increase of Ca accumulation could involve cell wall construction in plant defense mechanism. The results of this study indicated that seed treatment with the *Bacillus* CaSUT007 strain and foliar spraying with 200 ppm salicylic acid could be used to reduce soft rot disease severity in MAX018 chinese green mustard.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Crop Production Technology Student's Signature _____

Academic Year 2014 Advisor's Signature _____